

〔研究ノート〕

ひよこ豆テンペの抗酸化性に関する研究

渡辺睦行・坂尾眞理

Antioxidant Activity of Chickpea Tempeh

Nakamichi WATANABE and Mari SAKAO

Intravital lipid peroxidation is associated with the onset of diseases including atherosclerosis and cancer. Antioxidants such as polyphenols and peptides have been reported to prevent peroxidation. Our laboratory previously found that soybean tempeh, a traditional fermented soy food from Indonesia, possesses stronger antioxidant activity than unfermented soybeans. The aim of the present study is to establish whether chickpea tempeh also demonstrates elevated antioxidant properties compared with unfermented chickpeas using DPPH radical scavenging activity and β -carotene bleaching assays. Our results showed that total polyphenol content in chickpeas increased by up to 40% during fermentation. In addition, the DPPH assay revealed that the antioxidant activity of the chickpeas tempeh was stronger than that of unfermented chickpeas.

Key words: chickpea (ひよこ豆), tempeh (テンペ), antioxidant activity (抗酸化性)

1. 緒 言

生体内における脂質過酸化は、動脈硬化、糖尿病、アレルギー、癌など、様々な疾患の発症に関与するといわれており、脂質過酸化を抑制する物質として様々な抗酸化物質が報告されている^{1,2)}。食品由来の抗酸化物質としては、カテキン、アントシアニン、イソフラボン、リグナンなどのポリフェノール類の他に、ペプチドやメラノイジンなどの窒素化合物も挙げられる¹⁻³⁾。

本研究ではこれまでに、インドネシアの伝統的な大豆発酵食品である大豆テンペには、未発酵の大豆よりも強い抗酸化性があることを明らかにしている⁴⁾。この強い抗酸化性は、元々大豆に含まれているダイジンやゲニスチンなどのイソフラボン配糖体が β -グルコシダーゼによってアグリコン型になっ

たものと、タンパク質分解酵素によって新たに生じた抗酸化性ペプチドによるものであることを示している⁴⁾。

一般に、テンペは大豆を *Rhizopus microsporus* (テンペ菌) で発酵させたもののことをいうが、インドネシアのスラバヤでは、落花生をテンペ菌で発酵させたピーナッツテンペも食されている。ピーナッツテンペも大豆テンペと同様に、発酵によって抗酸化性が上昇することが示されている⁵⁾。

本研究では、ひよこ豆をテンペ菌で発酵させ新たにひよこ豆テンペを作成し、発酵によって抗酸化性が上昇するのかを明らかにすることを目的とした。

2. 方 法

2.1 ひよこ豆テンペの作成

市販のひよこ豆缶詰 (メテリアナ ガルバンゾービ

ーンズ, PANCRAZIO, イタリア)を試験用のひよこ豆とした。この市販のひよこ豆缶詰 500 g に対して、テンペ菌(秋田今野商店, 秋田) 0.5 g を播種した後、31℃にて16時間発酵させたものを試験用のひよこ豆テンペとした。

2.2 抗酸化試験試料溶液の作成

ひよこ豆, およびひよこ豆テンペを凍結乾燥後、ミキサーで粉末状にし、各試料に80%メタノールを加えて室温で、フラボノイドをはじめとする総ポリフェノールなどの抗酸化物質を抽出した後^{6,7)}、エバポレーターで濃縮、乾固した。この抽出物に、80%メタノールを加え、60 mg/20 mL になるように調製したものを測定用試料溶液とした。

2.3 DPPH ラジカル消去能活性試験による抗酸化性の測定

2.2 で作成した各試料溶液 300 μ L に 75 μ M DPPH/80%メタノール溶液 2700 μ L を加えてよく混合し、30分室温で放置した後、520 nm における吸光度を測定した。ポジティブコントロールには、0.2 mM トロロックス/80%メタノール溶液を用いた。

2.4 β -カロテン退色法による抗酸化性の測定

2.2 で作成した各試料溶液 100 μ L に 4900 μ L のリノール酸- β -カロテン溶液を勢いよく加え、50℃のブロックヒーターにて30分間インキュベートした後、470 nm における吸光度を測定した。ポジティブコントロールには、0.2 mM トロロックス/80%メタノール溶液を用いた。

2.5 総ポリフェノール含量の測定

2.2 で作成した試料溶液 1 mL とフェノール試薬 1 mL を混合し3分放置した後、10%炭酸ナトリウム溶液 1 mL を加え混合後、室温で1時間放置した。これを1900 \times gにて10分間遠心分離し、上清の吸光度を770 nm で測定した。フラボノイド系ポリフェノールであるケルセチンで作成した検量線から、総ポリフェノール量を算定した。

2.6 検定

2群間の検定には Student の T 検定を用いた。 $P < 0.05$ の時、有意差ありとした。

3. 結果および考察

未発酵のひよこ豆とひよこ豆テンペの DPPH ラジカル消去活性の測定結果を、トロロックス当量として図1に示した。ひよこ豆テンペの DPPH ラジカル消去活性は $0.060 \pm 0.001 \mu\text{mol}$ で、未発酵のひよこ豆の $0.015 \pm 0.000 \mu\text{mol}$ よりも有意に高く、テンペ菌による発酵によって抗酸化性が上昇することが示された。一方、 β -カロテン退色法により評価したひよこ豆テンペと未発酵のひよこ豆の抗酸化性は、トロロックス当量でそれぞれ、 $0.336 \pm 0.003 \mu\text{mol}$ 、 $0.362 \pm 0.026 \mu\text{mol}$ であり、ひよこ豆テンペと未発酵のひよこ豆との間に、有意差はみられなかった(図2)。未発酵のひよこ豆, およびひよこ豆テンペ 100 g に含まれる総ポリフェノール量を図3に示した。ひよこ豆テンペの総ポリフェノール量は $2.18 \pm 0.10 \text{ mg}/100 \text{ g}$ で、未発酵のひよこ豆の $1.55 \pm 0.09 \text{ mg}/100 \text{ g}$ と比較して約41%増加した。

これまで、ひよこ豆を *Bacillus amyloliquefaciens* で発酵させると総ポリフェノールおよび総フラボノイド含量が顕著に増加し、DPPH ラジカル消去活性も有意に上昇することが報告されている⁸⁾。さらに別の研究では、ひよこ豆から分離したタンパク質をプロテアーゼで加水分解することにより抗酸化性が上昇することを、DPPH ラジカル消去活性の測定、および β -カロテン退色法にて明らかにしている⁹⁾。この時、抗酸化性の上昇は β -カロテン退色法よりも DPPH ラジカル消去活性の測定で顕著であることも示されている⁹⁾。本研究では、*Rhizopus microsporus* (テンペ菌)によりひよこ豆を発酵させたが、これらの報告とほぼ同様の結果が得られた。

本研究では、ひよこ豆をテンペ菌で発酵させると、大豆をテンペ菌で発酵させた時と同様に抗酸化性が上昇することが明らかになり、テンペ菌で発酵させた食品の摂取は脂質過酸化と関係している様々な疾患の予防に有効である可能性が示された。

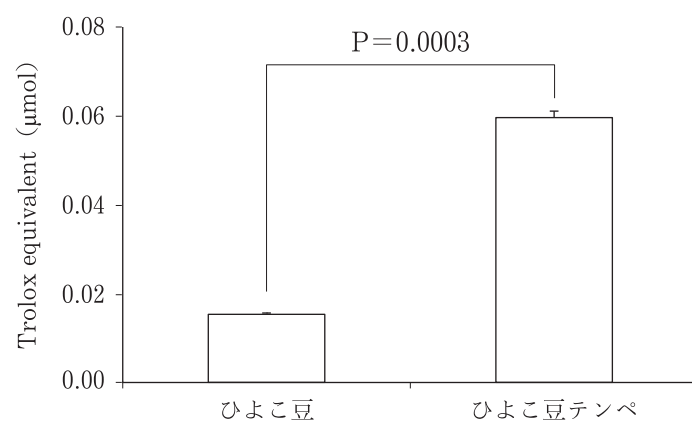


図1 DPPH ラジカル消去活性測定による抗酸化性の評価
データは平均値±標準偏差で示した (n=3)。

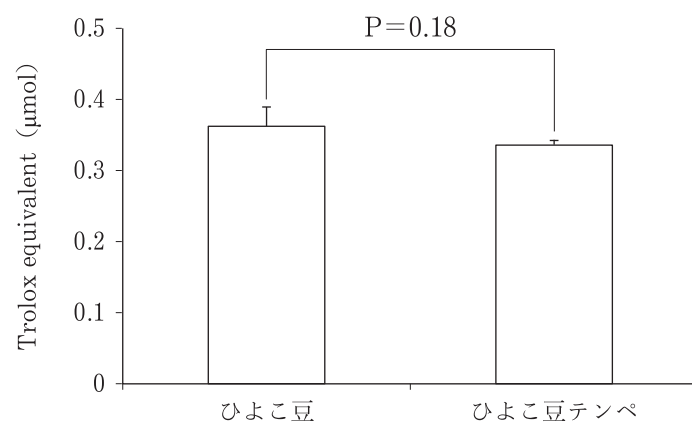


図2 β -カロテン退色法による抗酸化性の評価
データは平均値±標準偏差で示した (n=3)。

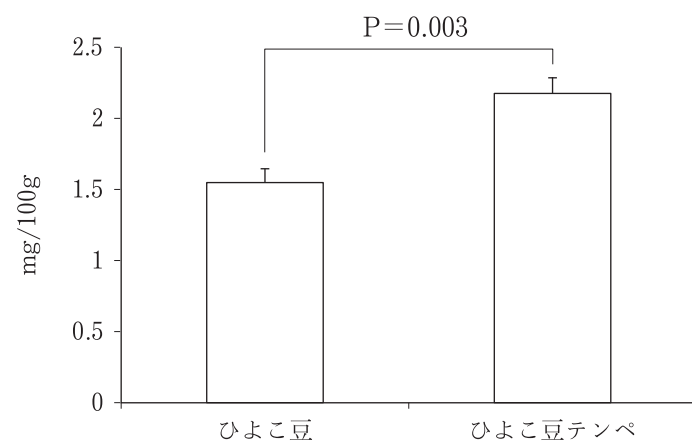


図3 総ポリフェノール含量 (mg/100 g)
データは平均値±標準偏差で示した (n=3)。

謝 辞

ひよこ豆テンペの作成方法をご指導頂きました株式会社テンペストフーズの入海健様に、深く感謝致します。

参考文献

- 1) Blomhoff R. Antioxidants and oxidative stress. Tidsskr Nor Laegeforen, 124, 1643-1645 (2004).
- 2) Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA, 90, 7915-7922 (1993).
- 3) Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Nokihara K. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. J Agric Food Chem, 44, 2619-2623 (1996).
- 4) Watanabe N, Fujimoto K, Aoki H. Antioxidant activities of the water-soluble fraction in tempeh-like fermented soybean (GABA-tempeh). Int J Food Sci Nutr, 58, 577-587 (2007).
- 5) Watanabe N, Horigome S, Aoyagi R, Djoko Agus P. Nutritional evaluation of peanut tempe by using cultured cells, PROCEEDING BOOK OF INTERNATIONAL JOINT SYMPOSIUM: 8TH BALI GERIATRIC UPDATE SYMPOSIUM — 21ST ANNUAL SCIENTIFIC MEETING: JAPAN SOCIETY OF HEMORHEOLOGY — KOBE WOMEN'S UNIVERSITY, Free paper p 6 (2014).
- 6) Teh SS, Bekhit AED, Birch J. Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: Effect of solvents. Antioxidants, 3, 67-80 (2014).
- 7) Aboshora W, Lianfu Z, Dahir M, Qingran M, Qingrui S, Jing L, Al-Haj NQM, Ammar AF. Effect of extraction method and solvent power on polyphenol and flavonoid levels in *Hyphaene Thebaica* L Mart (*Arecaceae*) (Doum) fruit, and its antioxidant and antibacterial activities. Trop J Pharm Res, 13, 2057-2063 (2014).
- 8) Wei X, Luo M, Xu L, Zhang Y, Lin X, Kong P, Liu H. Production of fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* by fermentation of chickpeas, with the evaluation of the anticoagulant and antioxidant properties of chickpeas. J Agric Food Chem, 59, 3957-3963 (2011).
- 9) Yust Mdel M, Millán-Linares Mdel C, Alcaide-Hidalgo JM, Millán F, Pedroche J. Hypocholesterolaemic and antioxidant activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. J Sci Food Agric, 92, 1994-2001 (2012).

(わたなべ なかみち 健康デザイン学科, 女性健康科学研究所)

(さかお まり 平成 25 年度管理栄養学科卒業生)